

## POTENSI SENYAWA POLIFENOL ANTIOKSIDAN DARI PISANG GOROHO (*Musa sapient* sp.)

The Potency of Antioxidant Polyphenol from Goroho Banana (*Musa sapient* Sp.)

Edi Suryanto<sup>1</sup>, Lidya Irma Momuat<sup>1</sup>, Mercy Taroreh<sup>2</sup>, Frenly Wehantouw<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Kampus Unsrat, Bahu Manado 95115; <sup>2</sup>Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Kampus Unsrat, Bahu Manado 95115

Email : edisuryanto@yahoo.com

### ABSTRAK

Pisang goroho merupakan bahan makanan yang memiliki efek positif bagi kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan senyawa polifenol dan menguji aktivitas antioksidan pisang goroho. Ekstraksi senyawa polifenol antioksidan dari pisang goroho menggunakan pelarut metanol, etanol dan aseton selama 2 jam pada suhu kamar. Selanjutnya masing-masing ekstrak dianalisa kandungan senyawa polifenol yang meliputi total fenolik, flavonoid dan tannin terkondensasi. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan diuji berdasarkan kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dan kandungan total antioksidan ekstrak menggunakan spektrofotometer. Selain itu, ekstrak terbaik pisang goroho juga dievaluasi stabilitasnya terhadap panas pada suhu 100°C selama 15, 30, 45, 60 dan 120 menit.

Hasil analisis kandungan total fenolik tertinggi terdapat pada ekstrak aseton sebesar 181,87 mg/kg sampel, kandungan total flavonoid sebesar 4,75 mg/kg sampel terdapat pada ekstrak etanol dan kandungan tannin terkondensasi sebesar 54,63 mg/kg sampel terdapat pada ekstrak aseton. Ekstrak aseton pisang goroho memiliki aktivitas penangkal radikal bebas tertinggi (94,32%) dibandingkan ekstrak etanol (85,39%) dan metanol (76,38%). Sedangkan pada penentuan total antioksidan ekstrak aseton buah pisang goroho memiliki total antioksidan tertinggi dibandingkan ekstrak metanol dan etanol. Kandungan total antioksidan dari ekstrak aseton, metanol dan etanol berturut-turut adalah 1,83; 1,74; dan 1,74 mmol/100 g. Hasil pengujian stabilitas pada pemanasan 100°C memperlihatkan perubahan kandungan total fenolik, aktivitas penangkal radikal bebas dan total antioksidan selama 120 menit. Akan tetapi, perubahan ketiga pengujian ini tidak menunjukkan penurunan yang tajam selama 60 menit pemanasan yang masih memperlihatkan aktivitas lebih besar 80%. Hasil ini mengindikasikan bahwa stabilitas ekstrak pisang goroho terhadap panas sangat tergantung pada lamanya pemanasan. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa pisang goroho mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan tannin serta memiliki aktivitas antioksidan.

**Kata kunci :** Pisang goroho, senyawa polifenol, antioksidan

### ABSTRACT

Goroho banana is food material that has positive content effect on human body. The aims of this research were to analyze polyphenolic content and to examine antioxidant activity of goroho. Polyphenolic antioxidant of goroho was extracted using methanol, ethanol and acetone for 2 hours at room temperature. Furthermore, extract was analyzed polyphenol content, such as total phenolic, total flavonoid and condensed tannin content. To examine antioxidant activity, free radical DPPH scavenging and total antioxidant (FRAP) were used by spectrophotometer analysis. Beside that, the best extract was evaluated its heat stability at 100°C for 15, 30, 45, 60 and 120 minutes.

The highest total phenolic content was in acetone extract 181.87 mg/kg sample, total flavonoid content 4.75 mg/kg sample in ethanol extract and condensed tannin 54.63 mg/kg sample in acetone extract. Acetone extract of goroho show the highest free radical scavenging activity (94.32%) compare to ethanol extract (85.39 %) and methanol extract (76.38 %). Although examination of total antioxidant (FRAP) on acetone extract of goroho showed the highest content than methanol and ethanol extract. Total antioxidant from acetone, methanol and ethanol extract were 1.83; 1.74; and 1.74 µmol/L. This examination resulted that at 100°C there are alterations in phenolic content, free radical scavenging

activity and total antioxidant after heating 120 minutes, although this three parameters alteration did not show extreme decreasing after 60 minute heating, because it still possess high activity, more than 80%. This result indicate goroho extract stability on heating depend on heating time. This results concluded that goroho possess to phenolic, flavonoid and tannin, also antioxidant activity.

**Keywords :** goroho banana, polyphenol, antioxidant

## PENDAHULUAN

Beberapa studi epidemiologi menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi komponen fenolik alami yang terdapat dalam sayuran dan buah-buahan mempunyai manfaat besar terhadap kesehatan yakni dapat mengurangi resiko penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, kanker, penyakit jantung koroner dan kanker (Ames dan Shigenaga, 1993; Shahidi, 1997). Produk derivat tanaman (edibel dan non edibel) mengandung sejumlah besar fitokimia dan senyawa fenolik (asam fenolik, flavonoid, tanin, lignan) dan non fenolik (karotenoid, vitamin C) yang memiliki substansi antioksidan dan aktivitas antiradikal (Shahidi dan Nacz, 1995), efek antikarsinogenik dan antimutagenik (Surh, 2003) dan potensi antiproliferatif (Shahidi, 1997). Senyawa fenolik terbukti pelindung melawan efek bahaya radikal bebas dan diketahui mampu menurunkan resiko kanker, penyakit jantung koroner, stroke, inflamasi, dan penyakit neurodegeneratif lain dihubungkan dengan stres oksidatif (Shahidi dan Nacz, 1995). Selain itu, senyawa fenolik diketahui juga mempunyai sifat-sifat multifungsional seperti berperan sebagai reduktan (penangkal radikal), pengelat logam dan penstabil oksigen singlet (Pratt, 1992).

Pisang goroho merupakan salah satu jenis pisang varietas lokal yang belum banyak dikenal masyarakat diluar Sulawesi Utara dibandingkan jenis pisang lainnya seperti pisang kepok, tanduk dan raja. Berdasarkan studi peninjauan awal menunjukkan bahwa jenis pisang goroho di Indonesia belum begitu populer dan hanya dipergunakan untuk kalangan terbatas di Sulawesi Utara dan kemungkinan tidak terdapat atau diperdagangkan diluar daerah asalnya. Bila melihat keunikan buah dan potensi bioaktivitasnya, bukan mustahil pisang ini dapat menjadi salah satu buah yang berpotensi untuk diversifikasi pangan, makanan fungsional dan merebut peluang pasar ekspor. Masyarakat di Sulawesi Utara biasa mengkonsumsi pisang ini setelah direbus dan dimakan bersama-sama dengan ikan bakar dan sayur, hal ini dikarenakan jenis pisang ini berasa tawar atau tidak manis ketika dikonsumsi. Selain itu, berdasarkan pengamatan di masyarakat Minahasa, pisang goroho dianjurkan untuk

dikonsumsi oleh penderita penyakit diabetes militus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan jenis pelarut yang optimal untuk mengekstrak antioksidan fenolik dari pisang goroho dan menguji aktivitas serta stabilitasnya sebagai antioksidan.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Sampel yang digunakan adalah buah pisang goroho matang yang diperoleh dari kebun rakyat di Kecamatan Tanah Wangko, Provinsi Sulawesi Utara. Bahan-bahan kimia yang dipakai dalam penelitian ini adalah besi (III) klorida, asam klorida pekat, asam asetat, besi (II) sulfat, natrium asetat, metanol, etanol, aseton, Folin Ciocalteu, natrium karbonat, aluminium klorida, vanillin, asam trikloroasetat diperoleh dari Merck (Darmstadt, Germany). TPTZ (2,4,6-tri-pyridyl-s-triazine) diperoleh dari Fluka, Chemic AG (Deisenhofen, Switzerland), kuersetin, asam galat, katekin dan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) diperoleh dari SIGMA Chemical Co. (St. Lois, MO). Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pisau, alat-alat kaca, mikro pipet Brand, kertas saring Whatman No. 42, rotari evaporator eyela N-1000, spektrofotometer *visible* LEYBOLD Milton Roy 501, timbangan analitik dan oven Memmert, *vortex* K Tipe VM-300, sentrifus 2000 dan *shaker* Burrel.

### Ekstraksi Pisang Goroho

Sampel pisang goroho segar sebanyak 50 g diekstraksi dengan masing-masing 100 ml pelarut metanol 90%, etanol 90% dan aseton 90% dalam gelas erlenmeyer 250 ml. Selanjutnya sampel digonjang (*shake*) dengan menggunakan *shaker* selama 2 jam. Setelah itu, sampel disentrifus selama 15 menit, lalu disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 42. Pelarut diuapkan menggunakan rotari evaporator pada suhu 40°C. Setelah itu, residu yang diperoleh ditepatkan volumenya dengan metanol sampai volumenya menjadi 100 ml.

### Penentuan Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik pisang goroho ditentukan dengan metode Jeong *dkk.* (2004). Sebanyak 0,1 ml ekstrak dengan konsentrasi 50% (b/v) dan 0,1 ml reagen Folin-Ciocalteu (50%) dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian campuran ini divortex selama 30 menit. Lalu ditambahkan 2 ml larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbans ekstrak dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 750 nm. Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan dengan cara yang sama menggunakan asam galat sebagai standar.

### Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Prosedur penentuan kandungan total flavonoid menggunakan metode Meda *et al.* (2005). Dua mililiter larutan ekstrak 50% (b/v) ditambah dengan 2 ml aluminium klorida 2% yang telah dilarutkan dalam etanol, kemudian divortex dan absorbans dibaca pada  $\lambda$  415 nm menggunakan spektrofotometer. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan dengan cara yang sama menggunakan kuersetin sebagai standar.

### Penentuan Kandungan Total Tanin Terkondensasi

Kandungan tanin terkondensasi sampel ditentukan menurut metode Julkenen-Titto (1985). Sebanyak 0,1 ml larutan ekstrak 50% (b/v) dimasukkan dalam tabung reaksi yang dibungkus aluminium foil, lalu ditambahkan 2 ml vanillin 4% (b/v) dalam methanol dan divortex. Selanjutnya ditambahkan 1 ml asam klorida pekat dan divortex. Absorbans sampel dibaca pada  $\lambda$  500 nm setelah campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Kandungan tanin terkondensasi dinyatakan sebagai ekuivalen katekin dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan katekin sebagai standar.

### Penentuan Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH

Penentuan aktivitas penangkal (*scavenger*) radikal bebas diukur dengan metode Espin *dkk.* (2000). Sebanyak 0,5 ml ekstrak pisang goroho (500 ppm) ditambahkan 2 ml larutan DPPH (93  $\mu$ M) dalam etanol (1:2) dan divortex. Setelah diinkubasi selama 30 menit, absorbans diukur pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 517 nm. Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:  $\{1 - (\text{absorbans}$

$\text{sampel/absorbans kontrol}) \times 100\%$ . BHT dan Vitamin E (VE) dengan konsentrasi 200 ppm digunakan sebagai sampel pembanding.

### Penentuan Total Antioksidan

Penentuan total antioksidan dalam ekstrak pisang goroho ditentukan dengan metode *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) (Halvorsen *dkk.*, 2002). Seratus mikroliter ekstrak pisang goroho ditambahkan reagen FRAP (2,5 ml bufer asetat; 2,5 ml larutan 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) dan 2,5 ml larutan  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) sebanyak 3 ml dalam tabung reaksi. Selanjutnya larutan dibaca absorbans dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 596 nm. Kandungan total antioksidan dinyatakan sebagai ekuivalen  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  dalam  $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$  ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan dengan cara yang sama menggunakan  $\text{Fe}^{2+}$  sebagai standar.

### Stabilitas Ekstrak Pisang Goroho Terhadap Pemanasan

Perlakuan panas pada ekstrak pisang goroho dilakukan menurut metode Tomaino *dkk.* (2005). Sebanyak 0,3 g ekstrak pisang goroho diletakkan dalam vial (tinggi 60 mm x diameter 30 mm) dan diinkubasi dalam penangas air pada suhu 100°C selama 0, 15, 30, 45, 60 dan 120 menit. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak terbaik dari hasil pengujian total fenolik, aktivitas penangkal radikal bebas dan total antioksidan. Pada akhir inkubasi, sampel didinginkan pada suhu kamar dan dianalisis kandungan total fenolik, aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dan kandungan total antioksidan.

### Analisis data

Semua perlakuan dilakukan dengan tiga ulangan dan dianalisis secara statistik dengan analisis varian (ANOVA) menggunakan software SPSS versi 16, beda nyata antar perlakuan diuji menggunakan Duncan multiple range test (DMRT).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan Total Fenolik, Flavonoid dan Tanin Terkondensasi

Kandungan fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi dalam ekstrak metanol (EM), ekstrak etanol (EE) dan ekstrak aseton (EA) disajikan dalam Tabel 1. Dari ketiga ekstrak pisang goroho yang diuji, semua ekstrak memiliki kandungan fenolik, flavonoid dan tanin. Dari data secara kuantitatif

menunjukkan bahwa kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin pada ekstrak pisang goroho berbeda antar jenis pelarut yang digunakan.

Penentuan kandungan total fenolik dilakukan untuk mengetahui potensi penangkal radikal bebas dalam suatu ekstrak. Pada penelitian ini, total fenolik dalam ekstrak buah pisang goroho diukur dengan standar asam galat (mg/kg). Total fenolik dalam ekstrak ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam ekstrak buah pisang goroho yang bereaksi dengan asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu (kuning) yang mengalami perubahan warna menjadi warna biru. Kandungan total fenolik ekstrak buah pisang goroho dapat dilihat pada Tabel 1. Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak dengan menggunakan pelarut aseton 90% mempunyai kandungan total fenolik paling tinggi ( $181,87 \pm 0,03$  mg/kg) dibandingkan dengan ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan pelarut metanol 90% ( $162,41 \pm 0,03$  mg/kg) dan pelarut etanol 90% ( $152,14 \pm 0,01$  mg/kg) ( $p < 0,05$ ). Tinggi rendahnya kandungan total fenolik dalam ekstrak buah pisang goroho berhubungan langsung dengan aktivitas penangkal radikal bebas dari masing-masing pelarut yang digunakan pada ekstrak pisang goroho. Kemampuan aktivitas penangkal radikal bebas ekstrak pisang goroho disebabkan oleh adanya senyawa-senyawa kimia yang dapat berperan sebagai penangkal radikal bebas.

Komponen fenolik atau disebut juga polifenol merupakan hasil dari metabolisme sekunder tanaman. Substansi ini memiliki berbagai macam struktur dan fungsi yang berbeda. Secara umum, fenolik terdiri atas cincin aromatik yang mengikat satu atau lebih gugus hidroksil termasuk turunan fungsionalnya. Penggolongan fenolik sangat beragam, mulai dari molekul sederhana seperti asam fenolik sampai dengan molekul kompleks seperti tanin. Komponen fenolik ini meliputi fenol sederhana, benzokuinon, asam fenolik, fenil asetat, asam sinamat, xanthon, golongan flavonoid, lignin dan biflavonoid (Dey dkk., 1989).

Hasil analisis kandungan flavonoid disajikan dalam Tabel 1, dari data ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak pisang goroho mengandung total flavonoid dalam jumlah kecil. Ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol ( $4,75 \pm 0,01$  mg/kg) memiliki kandungan total flavonoid yang lebih

tinggi dibandingkan ekstrak dengan menggunakan pelarut metanol ( $4,39 \pm 0,01$  mg/kg) dan aseton ( $4,07 \pm 0,01$  mg/kg). Flavonoid termasuk salah satu golongan terbesar dari polifenol dengan struktur difenilpropan ( $C_6C_3C_6$ ), terdiri atas dua cincin aromatik yang dihubungkan 3 atom karbon yang termasuk lingkaran heterosiklik. Flavonoid dibagi menjadi beberapa kategori antara lain flavonol, proantosianidin, antosianidin, flavon, flavonon, dan kalkon. Flavon (misalnya apigenin, luteolin dan diomestin) dan flavonol (misalnya kuersetin, mirisetin dan kaempferol) termasuk golongan flavonoid yang tersebar luas pada tanaman kecuali golongan alga dan jamur (ShahididanNacz, 1995).

Lebih lanjut dijelaskan oleh Shahidi dan Nacz (1995) ada beberapa mekanisme penghambatan oksidasi lemak oleh flavonoid. Flavonoid sebagai antioksidan dengan cara bereaksi dengan radikal bebas, termasuk anion superoksida, radikal peroksil dan radikal hidroksil. Mekanisme lainnya dengan cara penstabilan oksigen singlet, pengkelat logam, dan penghambatan kerja enzim lipoksigenase. Flavonoid dengan gugus hidroksil akan berfungsi sebagai penangkap radikal bebas dan semakin banyak gugus hidroksil akan meningkatkan aktivitas sebagai antioksidan.

Kandungan tanin terkondensasi yang dinyatakan sebagai ekuivalen katekin dalam mg/kg ekstrak disajikan pada Tabel 1. Total tanin terkondensasi tertinggi dari ekstrak pisang goroho ditemukan pada ekstrak dengan menggunakan pelarut aseton 54,63 mg/kg. Ekstrak dari pelarut aseton mengandung jumlah tannin terkondensasi yang lebih tinggi daripada ekstrak dari pelarut metanol dan etanol. Tanin dapat diklasifikasikan ke dalam 2 kelompok utama, yaitu: tanin yang dapat dihidrolisis (tanin terhidrolisis) dan tanin terkondensasi. Pada reaksi dengan asam atau enzim, tanin terhidrolisis pecah menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, sementara tanin terkondensasi menghasilkan kompleks produk yang tidak larut air. Tanin terhidrolisis dapat dibagi lagi menjadi gallotanin dan ellagitanin. Gallotanin pada hidrolisis menghasilkan gula dan asam galat, sedangkan hidrolisis ellagitanin menghasilkan gula, asam galat, dan asam elagat. Sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer kompleks, seperti katekin dan flavonoid yang teresterkan dengan asam galat (ShahididanNacz, 1995).

Table 1. Total phenolic, flavonoid and condensed tannin content of goroho banana extracts

Jenis ekstrak	Total fenolik (mg ekuivalen asam galat /kg)	Total flavonoid (mg ekuivalen kuersetin /kg)	Total tanin terkondensasi (mg ekuivalen katekin /kg)
Ekstrak metanol (EM)	$162,41 \pm 0,03^a$	$4,38 \pm 0,01^a$	$35,97 \pm 0,01^a$
Ekstrak etanol (EE)	$152,14 \pm 0,01^b$	$4,75 \pm 0,01^b$	$26,63 \pm 0,01^b$
Ekstrak aseton (EA)	$181,87 \pm 0,03^c$	$4,07 \pm 0,01^c$	$54,63 \pm 0,02^c$

Data dinyatakan dalam rata-rata  $\pm$  SD dari 3 ulangan. Data dengan *superscript* huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p < 0,05$ )



### Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH

Aktivitas penangkal (*scavenging*) radikal bebas dari ekstrak pisang goroho dievaluasi dengan pengujian radikal DPPH. Senyawa radikal DPPH digunakan sebagai substrat untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan. Radikal DPPH adalah radikal bebas yang stabil dan menerima satu elektron atau hidrogen menjadi molekul yang stabil (Matthaus, 2002). Pengujian aktivitas penangkap radikal bebas DPPH secara spektrofotometer dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan larutan DPPH. Perubahan absorbansi pada 517 nm digunakan untuk mengukur efek penangkapan dari senyawa antioksidan dalam ekstrak terhadap radikal DPPH. Absorbansi pada 517 nm menurun sebagai reaksi antara molekul antioksidan dan radikal DPPH. Oleh karena itu, lebih cepat penurunan absorbansi lebih berpotensi ekstrak sebagai antioksidan. Hal ini ditunjukkan pula dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning.

Pada Gambar 1, absorbansi ketiga ekstrak pisang goroho memiliki kemampuan sebagai penangkal radikal bebas di atas 70%. Data ini menunjukkan bahwa ketiga jenis pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi pisang goroho memiliki potensi besar sebagai penangkal radikal bebas DPPH serta memiliki kemampuan tinggi untuk melepaskan atom hidrogen kepada radikal DPPH yang berwarna ungu menjadi senyawa non radikal difenilpicrilhidrazin yang berwarna kuning. Gambar 1 juga menunjukkan bahwa ekstrak aseton (EA) memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak metanol (EM) dan ekstrak etanol (EE) ( $p < 0.05$ ). Besarnya aktivitas penangkal radikal bebas EA berhubungan dengan kandungan fitokimia fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa fitokimia fenolik dalam pisang goroho yang berperan kuat sebagai penangkal radikal bebas DPPH. Adapun reaksi antara radikal bebas DPPH dengan antioksidan (ekstrak fenolik pisang goroho) adalah sebagai berikut: senyawa fenolik memiliki atom hidrogen yang mengandung proton dan elektron yang mampu melepaskan elektron atau atom hidrogen kepada radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa non radikal difenilpicrilhidrazin. Hal ini dibuktikan dengan berkurangnya absorbansi dari larutan DPPH dan diikuti perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Molyneux, 2004). Hasil ini juga menunjukkan bahwa pelarut semi polar seperti aseton lebih banyak mengekstrak fitokimia fenolik dan tanin terkondensasi dari pisang goroho dibandingkan etanol dan metanol yang lebih polar.

Tanin merupakan metabolit sekunder yang memiliki karakteristik rasa sepat dan berwarna coklat, serta secara alamiah larut dalam air, membentuk kompleks polifenol yang banyak dijumpai pada tumbuhan biji, terutama pada buah dan kulit (Shahidi dan Naczki, 1995; Chung dkk., 1998). Aspek

kesehatan tanin telah dibahas oleh Chung dkk. (1998). Penelitian lain telah melaporkan bahwa tanin 15-30 kali lebih efektif dalam menangkap radikal peroksil daripada senyawa fenolik sederhana dan trolox (Hagerman dkk., 1998). Oleh karena itu, tanin bisa dipertimbangkan sebagai antioksidan biologi penting yang berpotensi.

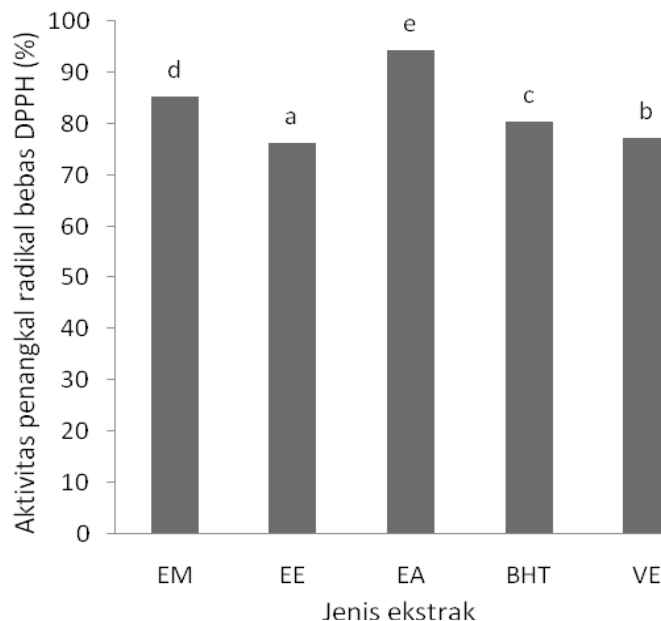


Figure 1. DPPH free radical scavenger activity of banana extract 500 ppm and standar samples. EM: methanol extract, EE: ethanol extract, EA: acetone extract, BHT: butylhydroxytoluene (200 ppm) and VE: tocopherol (200 ppm).

Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dari ketiga ekstrak dibandingkan dengan BHT dan vitamin E (VE) sebagai kontrol positif pada level 200 ppm disajikan pada Gambar 1. Ekstrak EA dan EM menunjukkan aktivitas penangkal radikal bebas lebih tinggi daripada BHT dan  $\alpha$ -tokoferol ( $p < 0.05$ ), sedangkan EE menunjukkan lebih rendah daripada kontrol positif. BHT dan  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E) merupakan antioksidan sintesis dan alami yang banyak digunakan sebagai penghambat reaksi oksidasi lipid dalam bahan makanan.

### Kandungan Total Antioksidan Pisang Goroho

Penentuan kandungan total antioksidan dari ekstrak pisang goroho pada penelitian ini dilakukan dengan uji *ferric reducing antioxidant power* (FRAP). Metode FRAP dapat menentukan kandungan total antioksidan dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa tersebut untuk mereduksi ion  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$ . Intensitas warna biru dari kompleks TPTZ- $Fe^{2+}$  yang merupakan dasar penentuan total antioksidan dalam metode FRAP memiliki absorbansi maksimum pada panjang gelombang 596 nm. Kandungan total antioksidan

pada beberapa jenis ekstrak pisang goroho dapat dilihat pada Gambar 2. Pada penentuan total antioksidan ekstrak aseton pisang goroho memiliki total antioksidan tertinggi dibandingkan ekstrak metanol dan etanol. Kandungan total antioksidan dari ekstrak aseton, metanol dan etanol berturut-turut adalah 1,83; 1,74; dan 1,74  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ .

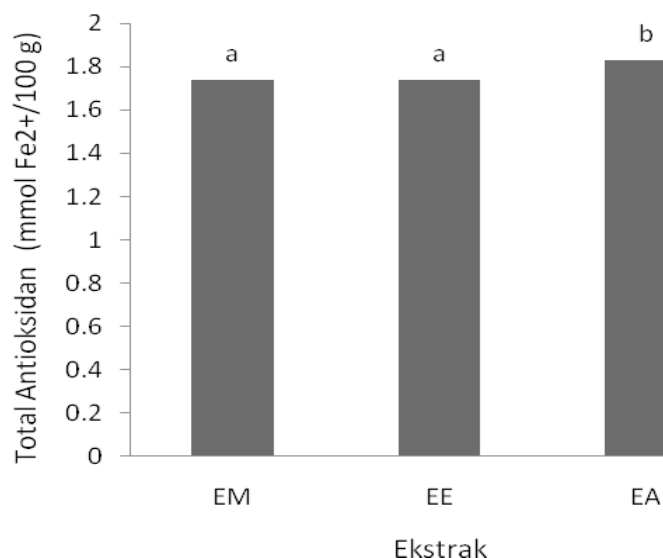


Figure 2. Total antioxidant content of goroho banana extract. EM: methanol extract, EE: ethanol extract and EA: acetone extract

Analisis total antioksidan bertujuan untuk melihat komponen antioksidan yang terdapat dalam buah pisang goroho dan melihat perbandingan dari jenis pelarut dengan menggunakan pelarut aseton, etanol dan metanol. Berdasarkan Gambar 2, total antioksidan pada ekstrak aseton lebih tinggi daripada ekstrak metanol dan ekstrak etanol. Semakin tinggi total antioksidan, maka semakin banyak senyawa yang dapat mereduksi  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  (warna biru). Senyawa yang mereduksi  $\text{Fe}^{3+}$  tersebut merupakan senyawa antioksidan. Ini diperkirakan bahwa ekstraksi dengan cara menggunakan pelarut aseton mengandung senyawa-senyawa yang bersifat pereduksi  $\text{Fe}^{3+}$  lebih banyak daripada pelarut metanol dan etanol. Senyawa pereduksi atau reduktor yang terdapat pada pisang goroho digolongkan dalam antioksidan fenolik alami. Karena itu, kehadiran senyawa fenolik dalam ekstrak aseton mampu berperan sebagai donor elektron yang selanjutnya menghakiri reaksi rantai radikal dengan mengubah radikal bebas menjadi produk yang lebih stabil.

Shahidi dan Naczk (1995) mengemukakan bahwa senyawa yang tergolong antioksidan alami dari golongan senyawa fenolik seperti senyawa fenolik sederhana, flavonoid dan tannin. Senyawa flavonoid, fenolik sederhana dan tanin merupakan senyawa antioksidan yang mengandung struktur fenol dan memiliki beberapa gugus fungsi hidroksi yang

banyak terdapat dalam tanaman, termasuk pisang goroho. Tingginya kandungan total antioksidan pada EA diduga dikarenakan oleh tingginya kandungan total fenolik yang terdapat dalam pisang goroho tersebut. Dugaan ini didasarkan pada hasil analisis kandungan fitokimia fenolik pada pisang goroho yang menunjukkan mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan tannin terkondensasi dalam pisang goroho.

### Stabilitas Ekstrak Pisang Goroho Terhadap Pemanasan

Berdasarkan hasil analisis kandungan fenolik, uji aktivitas penangkal radikal bebas dan total antioksidan yang terbaik pada hasil penelitian ini, maka selanjutnya dipilih ekstrak pisang goroho dengan pelarut aseton untuk pengujian stabilitas terhadap panas. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui stabilitas ekstrak fenolik dari pisang goroho terhadap berbagai faktor seperti pengolahan dengan perlakuan pemanasan. Atas dasar tersebut maka uji stabilitas panas terhadap ekstrak pisang goroho dilakukan selama interval waktu tertentu dan selanjutnya diuji kandungan total fenolik dan aktivitas penangkal radikal bebas serta total antioksidan.

Pemanasan merupakan salah satu proses pengolahan pangan yang sering dilakukan sehingga perlu diteliti pengaruh pemanasan terhadap stabilitas senyawa antioksidan fenolik dalam pisang goroho. Suhu pemanasan yang digunakan pada penelitian ini adalah  $100^{\circ}\text{C}$ . Pada penelitian ini dilakukan pemanasan dengan lima waktu pemanasan yaitu 15, 30, 45, 60 dan 120 menit. Konsentrasi ekstrak aseton yang digunakan adalah 500 mg/ml. Gambar 3 memperlihatkan perubahan kandungan total fenolik, aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dan total antioksidan ekstrak buah pisang pada pemanasan  $100^{\circ}\text{C}$  selama 15, 30, 45, 60 dan 120 menit. Stabilitas panas ekstrak buah pisang goroho memperlihatkan karakteristik kandungan senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan selama proses pengolahan.

Gambar 3 menunjukkan perubahan kandungan fenolik (A), aktivitas penangkal radikal DPPH (B) dan total antioksidan (C) ekstrak buah pisang goroho selama pemanasan. Data tersebut memperlihatkan terjadinya penurunan secara periodik kandungan fenolik, aktivitas penangkal radikal DPPH dan total aktivitas antioksidan yang signifikan sejalan dengan lamanya waktu perlakuan pemanasan. Persentase penurunan kandungan fenolik selama waktu 15, 30, 45, 60 dan 120 menit pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  berturut-turut adalah 1,65; 2,29; 15,05; 14,56 dan 42,18%. Data ini menunjukkan bahwa persentase penurunan kandungan senyawa fenolik selama waktu pemanasan tidak menunjukkan penurunan hingga di atas 50%. Data ini menunjukkan bahwa senyawa antioksidan fenolik yang terdapat dalam pisang goroho hanya stabil pada waktu pemanasan selama 15-30 menit. Jeong dkk. (2004)

melaporkan bahwa serbuk kulit jeruk yang dipanaskan pada suhu 100°C selama 60 menit menunjukkan peningkatan kandungan senyawa fenolik, tetapi tidak menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan.

Aktivitas penangkal radikal DPPH dari ekstrak aseton pisang goroho yang dipanaskan selama 15, 30, 45, 60 dan 120 menit berturut-turut adalah 99,73; 99,47; 99,29; 97,93 dan 97,61%. Dari data ini ekstrak buah pisang goroho masih tergolong memiliki aktivitas penangkalan radikal bebas cukup tinggi (>95%) hingga dipanaskan selama 120 menit. Pada penentuan kandungan total antioksidan menunjukkan sejalan dengan kandung senyawa fenolik dan aktivitas penangkalan

radikal DPPH, nilai persentase penurunan total antioksidan untuk perlakuan 15, 30, 45, 60 dan 120 menit berturut-turut adalah 1,81; 2,61; 3,79; 6,93 dan 36,05%. Ini berarti bahwa ekstrak buah pisang goroho masih memiliki kandungan total antioksidan yang tinggi, karena penurunan aktivitasnya masih di atas 50% selama pemanasan 120 menit. Hasil ini mengindikasikan bahwa stabilitas ekstrak pisang goroho terhadap panas sangat tergantung pada lama pemanasan. Oleh karena itu, dalam proses pengolahan pisang goroho perlu memperhatikan lamanya waktu pemanasan, mengingat pisang goroho termasuk jenis pisang olahan sebelum dikonsumsi.

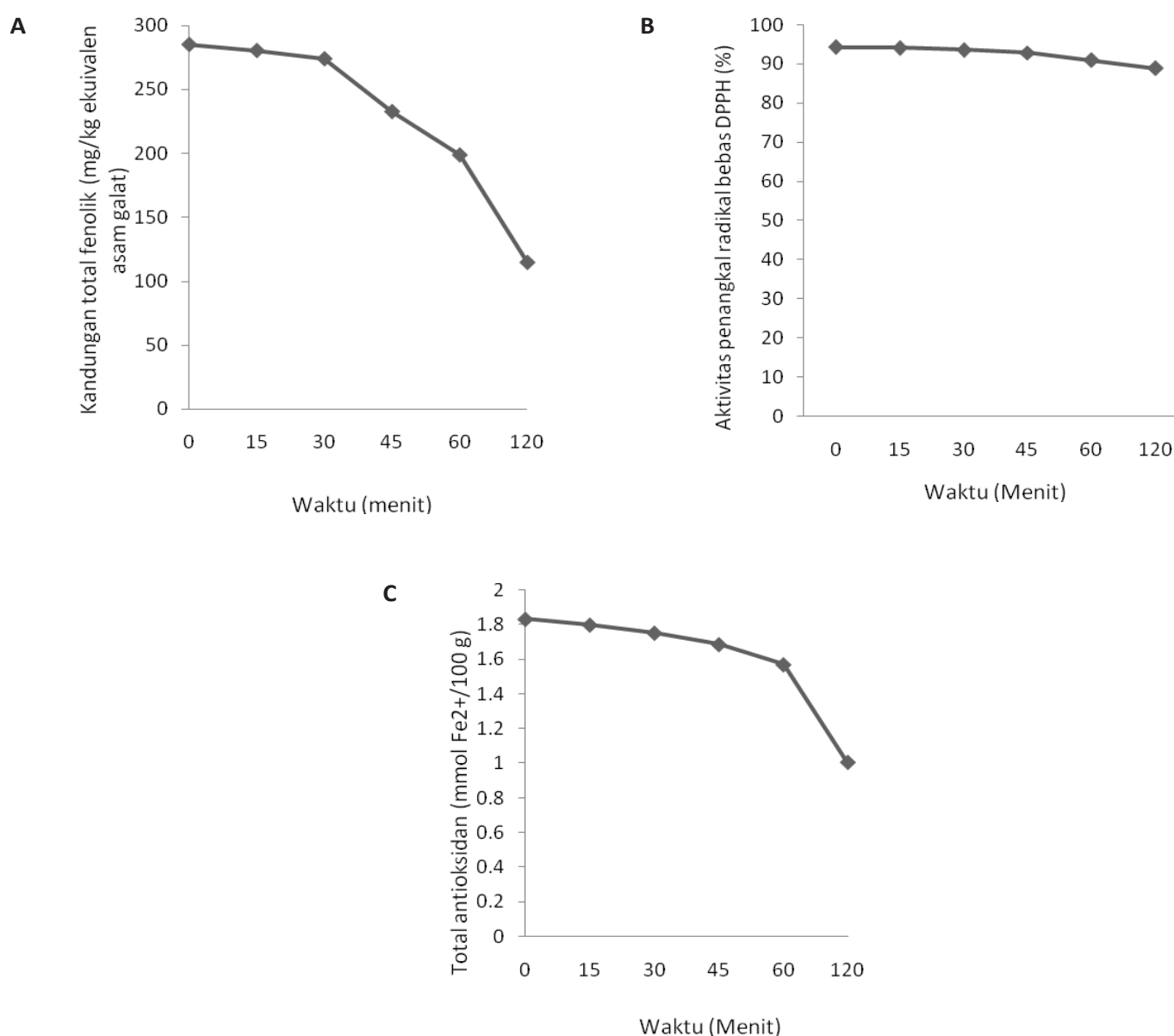


Figure 3. The effect of heating 100°C on change of total phenolic content (A), DPPH radical scavenger (B) and total antioxidant (C) of acetone extract (500 ppm) during 120 minutes heating.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa pisang goroho memiliki kandungan fitokimia fenolik yang bisa berperan sebagai antioksidan. Ekstrak aseton pisang goroho memiliki kandungan total senyawa fenolik dan tanin terkondensasi yang paling tinggi dibandingkan ekstrak metanol dan etanol. Sedangkan ekstrak etanol buah pisang goroho memiliki kandungan total flavonoid yang paling tinggi dibandingkan ekstrak metanol dan aseton. Berdasarkan pengujian aktivitas antioksidan, buah pisang goroho memiliki potensi sebagai penangkal radikal bebas DPPH. Ekstrak aseton memiliki aktivitas penangkal radikal DPPH dan kandungan total antioksidan tertinggi diikuti ekstrak metanol dan etanol. Pemanasan ekstrak pisang goroho tidak menunjukkan penurunan stabilitas selama 120 menit.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pimpinan Proyek Peningkatan Penelitian Perguruan Tinggi: Hibah Penelitian Strategis Nasional Tahun 2010, Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ames, B.N. dan Shigenaga, M.K. (1993). Oxidants are a Major Contributor in Cancer and Aging. Dalam B. Halliwell and O.I. Aruoma (Eds). DNA and Free Radicals, Ellis Horwood Ltd., West Sussex, U.K.
- Chung, K.-T., Wong, T.Y., Wei, C.-I.Y., Huang, Y.-W. Y. dan Lin, Y.Y. (1998). Tannins and Human Health: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **38**: 421-464.
- Dey, P.M. dan Harbone, J.B. (1989). *Methods in Plant Biochemistry: Plant Phenolics*. Academic Press. New York.
- Espin, J. C., Seler-Rivas, C. and Wichers, H.J. (2000). Characterization of The Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**: 649-656.
- Hagerman, A. E, Riedl, K.M., Jones, G. A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W. dan Riechel, T.L. (1998). High Molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**: 1887-1892.
- Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E., Ramberg, S.F., Wolrd, A.B., Haffner, K., Baugero, H., Andersen, L.F., Moskaug, O., Jacobs, D.R., Jr., and Blomhoff. (2002). A systematic Screening of Total Antioxidant in Dietary Plant. *Journal of Nutrition* **132**: 461-471.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Han, D.U., dan Lee, S.C. (2004). Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 3389-3393.
- Julkenen-Titto, R. (1985). Phenolic Constituents in leaves of northern Willows : Methods for the analysis of certain Phenolic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **33**: 213-217.
- Matthaus, B. (2002). Antioxidant Activity of Extracts Obtained from Residues of Different Oilseeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 3444-3452.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulina, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, Flavonoid, and Proline content in Burkina Faso Money, as well as their radical Scavenging Activity. *Food Chemistry* **91**: 571-577.
- Molyneux, P. (2004). The use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* **26**: 211-219.
- Pratt, D.E. (1992). Natural Antioxidants from Plant material. In Phenolic Compounds in Food and their Effects on Health (Vol. II). Antioxidants and Cancer Prevention; Huang, M.-T., Ho, C.-T., Lee, C., Eds.: ACS Symposium Series 507; American Chemical Society: Washington, DC.
- Shahidi, F. dan Naczki, M. (1995). *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications*. Technomic Publication Company, Inc., Lancaster.
- Shahidi, F. (1997). *Natural Antioxidants: An Overview*. In: Shahidi (eds). Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Application. AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Surh, Y.-J., (2003) Cancer Chemopreventive with Dietary Phytochemicals. *Nature Reviews Cancer* **3**: 768-780.
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A. dan Saija, A., (2005). Influence of Heating on Antioxidant Activity and The chemical Composition of Some Spice Essential oils. *Food Chemistry* **89**: 549-554.